Omaggio dell'A.

Estratto dalla " Rivista di Patologia nervosa e mentale "

Anno XVII, fasc. 5

Clinica delle malattie nervose e mentali della R. Università di Modena
diretta dal prof. A. Donaggio

A
Teresa

Procedimento per la colorazione dei condriosomi

Nota del dott. **G. Papadia,** Aiuto

9804

Teresa

FIRENZE
TIPOGRAFIA GALILEIANA
64 — Via San Zanobi — 64
—
1912

Clinica delle malattie nervose e mentali della R. Università di Modena
diretta dal prof. A. Donaggio

Procedimento per la colorazione dei condriosomi.

Nota del dott. **G. Papadia**, Aiuto

La presenza nel citoplasma di quelle speciali formazioni, a cui il Meves ha dato il nome complessivo di condriosomi, è stata in questi ultimi tempi oggetto di studî numerosi ed importanti. Da pochi anni le indagini sono state portate anche nel campo del sistema nervoso; ed in particolar modo il Meves ha fornito un contributo prezioso specialmente per ciò che riguarda i primi stadî di sviluppo della cellula nervosa.

I condriosomi sono stati messi in evidenza a preferenza coll'impiego di due metodi: quello di Benda all'alizarina e violetto cristallo e quello all'ematossilina ferrica di Heidenhain. Sebbene questi metodi abbiano condotto a belli ed importanti risultati, pure sono note le difficoltà che presentano, per ciò che riguarda una facile e sicura differenziazione del preparato. Intanto, siccome molti dei risultati delle ricerche fatte sono oggetto di discussione ed inoltre un vasto campo di nuove ricerche è ancora aperto all'indagine, ho creduto di pubblicare in questa breve nota un procedimento di colorazione dei condriosomi, che senza essere assolutamente elettivo, ha però il vantaggio di fronte agli altri di essere di un'esecuzione molto semplice.

Il procedimento consiste essenzialmente nel trattare i pezzi con bicromato e colorare le sezioni con fucsina acida. Procedo nel seguente modo:

Modalità *A*:

1) Fissazione: embrioni o pezzi di tessuto si fissano per 24 ore in una miscela di 100 parti di una soluzione di bicromato di potassio al 3 % e di 10 parti di formolo.

2) Immersione dei pezzi per 6-8 giorni in bicromato di potassio al 3 %. Questa soluzione deve essere fatta in acqua distillata e non in acqua di fonte.

3) Passaggio nella serie degli alcool e poi in xilolo solo per il tempo necessario per la disidratazione ed il rischiaramento.

4) Inclusione in paraffina.

5) Sezioni molto sottili, al massimo di 3 μ. Esse vengono attaccate sul vetrino coprioggetti per mezzo della semplice acqua distillata nel termostato a 37° C.

6) Sparaffinamento delle sezioni fatto con xilolo; indi passaggio negli alcool e poi in acqua distillata.

7) Colorazione: il preparato s'immerge in una soluzione acquosa satura di fucsina acida (Grübler) tenendovelo per 15 minuti alla temperatura di 60° C. La soluzione di fucsina deve esser fresca: le vecchie soluzioni tingono poco e male.

8) Lavaggio in acqua corrente.

9) Passaggio nella miscela seguente per 5 minuti:

soluzione alcoolica (in alcool a 96°) satura di acido picrico	cmc. 10
acqua distillata	» 40
soluzione acquosa satura di verde luce Grübler (*Lichtgrün F. S.*)	» 5

È opportuno agitare di tanto in tanto il vetrino in questa miscela, perchè avvenga meglio la differenziazione.

10) Doppio lavaggio in acqua distillata; indi alcool comune, ove il preparato cede ancora un po' di verde; alcool assoluto; xilolo; montaggio.

Procedendo in questa maniera i condriosomi si colorano in rosso.

Modalità *B*:

Questa seconda modalità riesce bene specialmente negli embrioni e dà immagini molto nette e sicure. La fissazione è identica a quella già enunciata per la modalità *A*:

1) Colorazione nella soluzione acquosa satura di fucsina acida oppure in soluzione satura di fucsina acida in acqua di anilina per 12-14 minuti alla temperatura di 60° C. Si può anche usare con eguali risultati la fucsina acida in soluzione con acqua carbolica secondo la formula seguente:

acqua distillata col 4 % di acido fenico puro cristallizzato	cmc. 100
fucsina acida Grübler	gr. 2
alcool assoluto	cmc. 10

Questa soluzione ha il vantaggio di mantenersi buona per la colorazione per molto tempo.

2) Lavaggio in acqua corrente.

3) Passaggio delle sezioni in una soluzione di molibdato d'ammonio puro di Merck al 4 %, oppure in bicromato di potassio al 3 % per 2 minuti.

4) Lavaggio in acqua distillata.

5) Passaggio per 30 secondi in una soluzione acquosa satura di verde luce.

6) Doppio lavaggio in acqua distillata ; alcool comune, dove il preparato finisce col differenziarsi ; alcool assoluto; xilolo ; montaggio.

Con questa seconda modalità i condriosomi delle cellule embrionali di pollo si colorano in rosso, il nucleolo e la membrana nucleare in verde ed il resto della cellula in verde più chiaro.

Della successiva colorazione con verde luce si può fare anche a meno, ed in questo caso si hanno i condriosomi tinti in rosso ed il resto in rosa.

Per il montaggio dei preparati mi sono utilmente servito invece del comune balsamo, nel quale molto spesso i preparati si scolorano, della resina Dammar sciolta in etere di petrolio e xilolo secondo la formula trovata dal prof. Donaggio per la conservazione dei preparati in genere e specialmente per quelli, così spesso labili, a base di aniline (*).

Questi procedimenti sono stati da me provati in embrioni di pollo ed in organi e tessuti di alcuni animali. I risultati delle osservazioni in corso saranno oggetto di un'altra nota.

(*) La miscela del Donaggio si prepara nel seguente modo: 12 gr. di resina Dammar pura (Merck) si sciolgono in 10 cmc. di xilolo Merck. Avvenuta la soluzione completa, si aggiungono lentamente 10 cmc. di etere di petrolio di densità 0,64-0,66 (Ditta Erba): si forma un intorbidamento che subito scompare agitando la miscela. Questa si tiene nei soliti vasetti a tappo smerigliato ; bisogna chiudere rapidamente dopo l' uso per evitare l'evaporazione dell'etere di petrolio.

La resina Dammar lascia quasi sempre al fondo della soluzione dei detriti ; bisogna ben guardarsi dal filtrare per toglierli, perchè in tal caso la miscela dopo qualche tempo si altera. Bisogna soltanto decantare, e in tal modo la miscela si conserva sempre limpidissima.

Questa miscela conserva i preparati eseguiti con i metodi di Donaggio anche se sottoposti alla differenziazione rapida con il *Pink-Salt*.

La *Rivista di Patologia nervosa e mentale* esce ogni mese in fascicoli di 64 pagine ciascuno; contiene recensioni delle opere e degli articoli più recenti che concernono l'Anatomia e la Fisiologia del sistema nervoso, la Nevropatologia e la Psichiatria; e pubblica anche memorie originali sugli stessi argomenti.

Prezzo d'abbonamento:

Per l'Italia ..... L. 25. — Per l'Estero ..... L. 30

Amministrazione: prof. TANZI, Clinica di San Salvi, FIRENZE.